

nymes cités par Linné pour sa variété  $\beta$ . du *D. Pardalianches* (in *Spec.* 1247).

M. Mangin fait à la Société la communication suivante :

OBSERVATIONS SUR L'ASSISE A MUCILAGE DE LA GRAINE DE LIN,  
par M. Louis MANGIN. □

L'assise externe du tégument des graines de Lin, qui se gonfle et se gélifie rapidement sous l'influence de l'eau, a été l'objet de nombreux travaux destinés à faire connaître la nature et le mode de formation du mucilage. J'ai été entraîné par mes recherches sur la membrane à étudier les gommés et les mucilages, et les observations que j'ai déjà pu faire m'ont démontré qu'il y avait encore à glaner sur ce terrain cependant si fouillé. J'exposerai dans cette Note les résultats de mes observations sur l'épiderme mucilagineux de la graine de Lin.

Deux opinions ont été émises sur l'origine et le mode de formation du mucilage produit par la graine de Lin. La première, exposée dans les traités de Matière médicale sous une forme incidente et non justifiée par des observations spéciales, consiste à envisager le mucilage comme le contenu des cellules épidermiques.

La seconde opinion, émise par les anatomistes à titre de conclusion de travaux spéciaux sur cette partie du tégument, consiste à représenter le mucilage de la graine de Lin comme le produit du gonflement et de la gélification consécutive des membranes épidermiques fortement épaissies.

Kützing (1), le premier, a montré que le mucilage de la graine de Lin, comme celui d'un certain nombre d'autres graines, est un produit de transformation des membranes; il a constaté que les membranes qui le produisent bleussent au contact de l'iode et de l'acide sulfurique, et il rapporte la substance qui les forme à l'eugélacine.

Dans un travail exécuté surtout en vue d'établir la composition chimique du mucilage, Cramer (2) a nettement figuré les couches stratifiées de la région mucilagineuse emplissant complètement la cavité cellulaire et revêtues d'une membrane assez épaisse, séparée des premières couches mucilagineuses par une région granuleuse. La dépendance dans laquelle le mucilage se trouve relativement à la mem-

(1) Kützing, *Grundzüge der philosophischen Botanik*.

(2) C. Cramer, *Ueber das Vorkommen und die Entstehung einiger Pflanzenscheime* (*Pflanzen physiologische Untersuchungen* von C. Nägeli und C. Cramer, 3 Heft 1855, pp. 1-9).

brane lui paraît si nette qu'il n'a pas jugé à propos de l'établir par des observations détaillées.

Hofmeister (1) reprend cette question et constate que la structure de l'assise externe du tégument de la graine de Lin est entièrement semblable à celle du *Sisymbrium Irio*. Voici ce qu'il écrit à propos de cette dernière graine : « La cloison externe des cellules est si fortement » épaissie que le vestige de la cavité cellulaire peut être reconnu dans » quelques cellules seulement. La cloison externe paraît homogène, » mais la cuticule se sépare d'elle comme une couche distincte.

» ... La partie la plus interne de la cloison épaissie se gonfle fortement par l'action de l'eau, la lame externe et les cloisons latérales » se gonflent peu ».

En ce qui concerne la graine de Lin, chez laquelle Hofmeister n'a pas vu la stratification figurée par Cramer, l'auteur ajoute que sous l'influence de l'eau, et par suite de la résistance de la partie externe non gélifiable, « les cloisons radiales s'allongent d'environ trois fois leur » longueur, de sorte que la gelée emplit les cellules. »

Il donne ensuite quelques détails sur la cloison externe désignée à tort sous le nom de *cuticule* : « ... Elle (la cuticule) possède une propriété » intéressante : par l'emploi de l'iode et de l'acide sulfurique, elle se » colore en bleu parfois assez foncé pour devenir noirâtre. »

Dans un travail très remarquable, M. Frank (2) a repris l'étude de cette assise intéressante. Voici le résultat de ses observations :

« Si l'on examine une coupe transversale mince du tégument dans » l'alcool, on voit que le mucilage remplit presque entièrement les cel- » lules superficielles comme une masse à peine stratifiée; on trouve seu- » lement dans le milieu *une cavité très étroite en forme de capuchon » dont la concavité est interne.*

» Si l'on place les coupes dans de l'eau, jusqu'à ce que le gonflement » commence à se manifester et qu'on les plonge aussitôt dans l'alcool, » on voit nettement *apparaître la cavité cellulaire* et le mucilage se » montre à l'état de membranes secondaires à structure stratifiée, qui » *appartiennent aussi bien à la cloison cellulaire externe qu'à l'in- » terne.*

» La cavité cellulaire a été indiquée par Hofmeister d'une manière » inexacte, parce que les membranes dépendant de la cloison interne » ont échappé à son attention. »

(1) Hofmeister (W.), *Ueber die zu Gallerte aufquellenden Zellen der Aussenfläche von Samen und Perikarpium* (Bericht. der kön. Sächs. Gesellschaft. der Wissenschaften math. physisch. Classe, 1858, p. 18).

(2) Frank (A.-B.), *Ueber die anatomische Bedeutung und die Entstehung der vegetabilischer Schleime* (Pringsh. Jahrb., t. V, 1866-1867, pp. 161-198).

Le gonflement des membranes secondaires et l'allongement consécutif des cloisons radiales déjà signalés par Hofmeister, ont été bien décrits par M. Frank, mais il ne donne pas l'explication de l'allongement des parois radiales.

La membrane épaisse externe et les cloisons radiales se colorent en bleu sous l'influence de l'iode et de l'acide sulfurique, le mucilage n'est pas coloré et, d'après l'auteur, il n'appartient pas à la cellulose, mais à la gomme végétale.

L'étude du développement complète et confirme les observations qui précèdent.

« ... Les membranes secondaires apparaissent sous l'aspect de  
 » quelques couches à la surface interne de la cloison externe pendant  
 » que les cellules épidermiques sont encore remplies d'amidon; en peu  
 » de temps celles-ci s'épaississent par le dépôt de nouvelles couches, de  
 » sorte que la cavité cellulaire se réduit considérablement de l'exté-  
 » rieur vers l'intérieur... »

» ... Enfin, les couches en capuchon qui appartiennent à la cloison  
 » interne de la cellule se déposent et remplissent graduellement la ca-  
 » vité, de sorte que le contenu amylicé disparaît.

» Dans tous ces stades, les couches d'épaississement se gonflent par  
 » l'emploi de l'eau, elles sortent des cellules et entraînent avec elles les  
 » grains d'amidon emprisonnés; l'alcool les coagule de nouveau. Elles  
 » ne se colorent jamais en bleu par l'iode et l'acide sulfurique, mais en  
 » jaune. Elles sont donc formées, dès leur première apparition, de la  
 » même substance chimique que dans l'état adulte. »

M. Sempolowski (1) a repris, en 1874, l'étude de la graine de Lin. Après un historique dans lequel on est surpris de ne pas même voir la mention des belles recherches de M. Frank, l'auteur accepte, pour l'origine du mucilage, les idées exprimées par Cramer et surtout par Hofmeister. M. Sempolowski insiste principalement sur le mode d'émission de la gelée : « Les graines placées dans l'eau s'entourent d'une  
 » enveloppe mucilagineuse qui diffuse à travers les interstices molé-  
 » laires de la cuticule; pour cette raison les couches gélifiables n'ont  
 » pas à vaincre la résistance de la cloison externe non gélifiable et  
 » celle-ci n'est pas déchirée. Je n'ai trouvé aucune trace de déchirure  
 » chez les graines qui avaient séjourné plusieurs jours dans l'eau. Les  
 » déchirures des coupes représentées par Sachs, Nobbe et Flückiger,  
 » contrairement à mes observations, sont certainement produites par le  
 » couteau employé pour les obtenir. »

(1) Sempolowski, *Ueber den Bau der Schale landwirthschaftlich wichtiger Samen* (*Landwirthschf. Jahrbücher*, t. III, 1874, p. 823).

Il semble d'après les résultats précédents, que l'origine du mucilage de la graine de Lin ne pouvait plus être douteuse.

Si l'on consulte cependant les ouvrages de Pharmacie consacrés à la description des drogues simples d'origine végétale, on y trouve reproduite, avec des variantes sans importance, l'hypothèse du mucilage considéré comme contenu. On ne rencontre d'ailleurs aucune preuve à l'appui de cette hypothèse, et les auteurs qui l'ont émise n'ont pas fait de recherches spéciales sur ce sujet.

C'est ainsi que dans l'Atlas d'Otto Berg (1), on lit que... « Le tégument de la graine de Lin se compose de plusieurs rangées de cellules; la plus extérieure est formée de cellules épidermiques contenant la gélée végétale, qui sont de forme presque cubique, ou peu allongées dans le sens radial et très réfringentes; leurs cloisons sont très minces. »

La quatrième édition, revue par Garcke (2), reproduit à peu près la même description.

D'après M. Planchon (3): « Elles contiennent (les cellules épidermiques) du mucilage et ce sont elles qui mises dans l'eau se gonflent immédiatement et se déchirent de manière à ne laisser que les débris de leur cloison. »

Flückiger et Hanbury (4) laissent douteuse l'origine du mucilage: « Dans la glycérine diluée ou dans l'eau, l'épiderme gonfle rapidement et acquiert trois ou quatre fois son épaisseur primitive; si l'on chauffe, l'épiderme entier se résout en mucilage, sauf un mince squelette de parois cellulaires qui résiste même à l'action de la potasse caustique. »

Par contre M. Wiesner ainsi que Wigand, qui par la nature de leurs travaux pouvaient se rendre compte de la valeur des hypothèses émises sur la nature du mucilage, acceptent la manière de voir exprimée par les anatomistes. Ainsi Wigand (5) déclare nettement que le mucilage végétal, qu'il nomme bassorine, représente la cloison cellulaire dans l'épiderme de beaucoup de graines (*Linum*, *Cydonia*, etc.), et, en décrivant la graine de Lin, il s'exprime ainsi (6) « ... La membrane (extérieure) est formée de cellules grandes, cubiques, incolores, avec cloison

(1) Otto Berg, Berlin, 1865, pl. XLVI, p. 91.

(2) Otto Berg, *Pharmaceutische Waarenkunde* (4<sup>e</sup> Auflage neu bearbeitet von Dr A. Garcke. 1869, p. 448).

(3) Planchon, *Drogues simples d'origine végétale*, 1875. Savy, t. I, p. 380.

(4) Flückiger et Hanbury, *Histoire des drogues d'origine végétale*, traduction du *Pharmacopœa* par J. de Lanessan, 1878, t. I, p. 189.

(5) Wigand (Alb.), *Lehrbuch der Pharmacognosie mit besonderer Rücksicht auf die Pharmacopœa Germanica sowie als Anleitung zur naturhistorischen Untersuchung vegetabilischer Rohstoffe*. 2<sup>e</sup> Auflage. Berlin, 1874, p. 13.

(6) Wigand (Alb.), *loc. cit.*, p. 296.

interne fortement épaissie en couches stratifiées, qui se gonflent dans l'eau, déchirent la cuticule et se répandent en gelée.

M. F. Nobbe (1) admet aussi que le mucilage de la graine de Lin est formé par le gonflement des membranes secondaires de l'assise épidermique.

Enfin, M. Godfrin (2), dans un Mémoire très intéressant sur les téguments des graines, s'est aussi rangé à l'hypothèse émise par MM. Hofmeister, Frank, Sempolowski.

Tout récemment, M. Brandza a contesté les faits admis jusqu'alors par tous les anatomistes. Dans une Note présentée à la Société de biologie, par M. G. Bonnier, M. Brandza s'exprime ainsi (3) :

« ... On voit alors, sur les coupes transversales observées dans l'alcool ou dans la glycérine, que les cellules épidermiques sont remplies d'un contenu brunâtre, contracté et disposé en fer à cheval dans la cavité cellulaire.

« ... A l'état de contraction dont nous parlions plus haut, il était facile de constater que le mucilage remplissait les cavités cellulaires et qu'il ne provient pas, comme plusieurs auteurs le soutiennent, de la gélification, au contact de l'eau, de la paroi externe des cellules épidermiques, qui se serait considérablement épaissie et transformée. »

Ces affirmations rendaient superflue l'étude du développement; mais, par un scrupule dont nous devons lui savoir gré, M. Brandza veut bien nous apprendre l'origine de ce *contenu brunâtre*, et il trouve que dans les jeunes états, « les cellules sont remplies de grains d'amidon arrondis, isolés ou réunis, amidon qui disparaît peu à peu pour faire place au mucilage. On peut supposer, en voyant cette disparition progressive de l'amidon, alors qu'il persiste dans les couches sous-jacentes, que c'est à sa transformation qu'est dû le mucilage. »

Dans un travail consacré au développement du tégument des graines, M. Brandza (4) revient sur cette description : « Les cellules sont même, à partir de leur état le plus jeune, complètement remplies d'amidon qui disparaît progressivement de haut en bas pour faire place au mucilage. On peut suivre pas à pas cette transformation qui

(1) F. Nobbe, *Handbuch der Samenkunde*. Berlin, 1876, p. 77 et suiv.

(2) J. Godfrin, *Étude histogénique sur les téguments séminaux des Angiospermes*. Nancy, 1880, p. 93.

(3) Brandza (M.), *Sur l'anatomie et le développement des téguments de la graine des Lins* (*Bull. Soc. de biologie*, 9<sup>e</sup> série, t. I, 1889, p. 629).

(4) Brandza, *Développement des téguments de la graine* (*Revue générale de Botanique*, t. III, 1869, p. 162 et suiv.). « Ces recherches ont été faites sous la bienveillante direction de M. le professeur Gaston Bonnier, qui n'a cessé de me prodiguer de précieux conseils. »

» montre clairement que le mucilage ne provient pas de la gélification  
 » de la membrane cellulaire externe qui se serait préalablement épaissie,  
 » mais qu'il est dû à la transformation directe de l'amidon. »

On chercherait vainement dans le travail de l'auteur l'indication des procédés au moyen desquels il a suivi « *pas à pas* » la transformation de l'amidon en mucilage.

Si M. Brandza avait pris la peine de lire les travaux de Frank, Hofmeister, Sempolowski, il n'aurait pas énoncé comme nouveau le fait de la formation du mucilage aux dépens de l'amidon, fait connu depuis plus de vingt ans; il n'aurait pas non plus passé sous silence le fait significatif de la stratification des couches mucilagineuses, signalé par la plupart des auteurs.

Les conclusions des anatomistes de la valeur de Hofmeister, de Frank et de Cramer méritaient au moins, de la part d'un débutant, les honneurs d'une discussion.

Les extraits que je viens de donner et les observations qui vont suivre permettent d'affirmer que, dans la plus grande partie de ses observations, M. Brandza a exprimé le contraire de la vérité. Je n'aurais pas signalé ce travail si le patronage dont l'auteur se réclame ne semblait donner à son œuvre une certaine autorité.

#### **Lin commun.**

**TÉGUMENT DE LA GRAINE MURE.** — Si l'on pratique des coupes minces à travers la graine de Lin mûre et qu'on les examine dans la glycérine pure ou dans une solution saturée de chlorure de calcium, l'assise épidermique se présente sous l'aspect d'une lame épaisse, *incoloré*, homogène et réfringente; on ne voit jamais le « contenu brunâtre » contracté en fer à cheval, comme l'a signalé M. Brandza; on n'y voit pas non plus les fentes en forme d'arc observées par M. Frank.

Si on laisse séjourner les coupes pendant quelques minutes dans l'eau pure, le mucilage se gonfle et se dissout presque entièrement; les cellules épidermiques apparaissent nettement formées par une membrane extérieure épaisse, cutinisée seulement sur une partie extrêmement faible de son épaisseur. Cette cuticule n'est pas colorée par la teinture d'Alkanna, ce qui n'a rien d'étonnant, puisque, très perméable à l'eau, elle ne peut pas renfermer les incrustations cireuses que ce réactif décèle dans la plupart des épidermes; elle se colore très faiblement par la cyanine.

Sous l'action de l'iode et de l'acide phosphorique concentré, la mince couche cutinisée (c, fig. 3, pl. I) externe prend une faible coloration jaune, tandis que la partie interne de la membrane se colore en bleu

foncé, comme l'avait observé Hofmeister. En outre, sous l'action de ce réactif, elle se gonfle considérablement (fig. 3, pl. I) et atteint quatre ou cinq fois son épaisseur primitive, en prenant une apparence stratifiée due à l'intercalation de bandes granuleuses dans la masse homogène. Le gonflement a souvent lieu du dehors en dedans, de sorte que les cloisons radiales *p* se plissent ou sont fortement ondulées.

Les lambeaux de la paroi épidermique, examinés de face ou de profil, ne montrent pas trace des interstices dont M. Sempolowski accepte l'existence pour expliquer la sortie du mucilage sans rupture de la membrane extérieure; ces interstices, s'ils existent, ne pourraient être que les espaces intermoléculaires. Comment admettre, dans ce cas, qu'une substance aussi colloïdale que le mucilage puisse traverser la membrane extérieure sous une pression incapable de déterminer la rupture de celle-ci? D'ailleurs l'observation montre que, dans les graines de Lin placées dans l'eau, il y a réellement rupture de la paroi externe. J'ai laissé séjourner ces graines dans l'eau pure pendant plusieurs jours en renouvelant l'eau à plusieurs reprises, puis j'ai remplacé l'eau par l'alcool pour coaguler et durcir les membranes. En pratiquant des coupes tangentielles à la surface, on enlève des lambeaux circulaires ou ovales du tégument et on les colore à l'aide d'un colorant basique: on peut constater que les membranes qui occupent le centre du fragment, qui par suite n'ont pas subi l'action du rasoir, sont brisées en fragments irréguliers pour livrer passage au mucilage; dans les coupes minces, cette rupture n'a pas lieu parce que le mucilage s'échappe par les faces de la coupe.

Les cloisons radiales sont très minces, mais elles présentent à la partie interne, sur une longueur égale au  $1/7^e$  ou au  $1/8^e$ , une région plus épaisse et légèrement subérifiée (*b*, fig. 3), qui se continue avec la paroi *n* contiguë aux assises cellulaires qui s'écrasent et se déforment au moment de la maturité, de manière à appliquer celle-ci contre l'assise brune.

Vues de face après l'action des colorants basiques (bleu de naphthylène) ou des colorants acides (benzoazurine, Congo), qui caractérisent respectivement les composés pectiques et la cellulose, on obtient une forte élection de la matière colorante, ce qui démontre, dans les cloisons radiales et dans la membrane externe, l'existence de ces substances fondamentales.

Les parois radiales ne se colorent pas dans toute leur surface, il reste sur la partie interne un mince liséré incolore correspondant à l'épaississement subérifié qui se raccorde avec la membrane interne; on voit très bien ce liséré, avec ses stries caractéristiques, dans la figure 3, qui représente l'aspect du tégument après l'action de l'acide phosphorique iodé. La partie colorée des parois radiales (fig. 6, *p*) est sillonnée de stries

très fines et très rapprochées, se coupant sous des angles très aigus et dirigées de dedans en dehors.

*Étude du mucilage dans les cellules épidermiques.* — Pour étudier les rapports du mucilage avec les parois des cellules épidermiques, il faut retarder le gonflement de cette substance et en même temps la teindre avec les colorants basiques. On peut employer à cet effet le sulfate de fer, déjà indiqué par Flückiger et Hanbury, ou mieux l'acétate neutre de plomb. Les coupes transversales du tégument, faites à sec, sont placées pendant quelques minutes dans une solution d'acétate neutre de plomb à 10 pour 100, puis traitées par un mélange de vert acide et de rouge neutre (1). On lave à l'eau, puis on place les coupes dans une solution d'acide borique en lutant la préparation avec de la paraffine vaselinée, ou encore dans une solution de glucose. Dans ces conditions, le mucilage se gonfle avec une très grande lenteur et c'est souvent après plusieurs jours qu'il a rompu les membranes pour s'extra-vaser au dehors.

Les coupes montrent avec la plus grande netteté les stratifications signalées par MM. Cramer, Frank, Sempolowski, etc., dont M. Brandza n'a même pas parlé. J'insisterai sur leur description pour mettre en relief une disposition importante qui a jusqu'ici échappé à l'attention. Les strates très nombreuses viennent toujours converger en un même point *a* des faces radiales, situé exactement à l'endroit où j'ai signalé plus haut (fig. 1, 2, 3, *a*) une différence d'épaisseur; les strates externes fortement colorées ressemblent à des portiques, les strates moyennes moins colorées sont souvent arciformes, enfin les strates internes faiblement colorées, souvent situées au-dessous du point de convergence, prennent l'aspect d'un accent circonflexe. Cette disposition paraît montrer que les couches d'épaississement ont contracté, au niveau *a* de l'amincissement des parois radiales, une adhérence avec celles-ci.

La cavité cellulaire est d'ordinaire entièrement remplie par le mucilage; dans quelques cellules qui ont subi un arrêt de développement, et cela a lieu très rarement, le mucilage offre la disposition en fer à cheval et la couche interne est tapissée d'un revêtement protoplasmique.

Les parois radiales, très distinctes, sont caractérisées au début du gonflement par des plissements transversaux (fig. 1, *p*) très fins et très

(1) Le rouge neutre (L. Cassella) (chlorhydrate de diméthylidiamidotoluphénazine) appartient au groupe des Eurhodines. Il est très soluble dans l'eau et a l'avantage, sur le bleu naphthylène, de ne pas précipiter ou cristalliser dans les préparations. Il teint les composés pectiques et les mucilages coagulés en jaune orangé et se mélange sans précipitation avec les verts acides. Il est soluble dans l'alcool, la glycérine, les acides qui décolorent les coupes, et il est précipité par les alcalis.

nombreux destinés à favoriser l'allongement des cellules épidermiques en direction radiale sous l'influence du gonflement du mucilage. Au fur et à mesure que l'allongement se produit, les plis s'effacent et les parois radiales deviennent planes (fig. 2, *p*).

*Gonflement et dissolution consécutive du mucilage.* — C'est dans un sirop de saccharose, ou mieux de glucose, que l'on doit placer les coupes préalablement traitées par l'acétate de plomb et les colorants basiques, pour observer les phases successives du gonflement du mucilage. On peut encore, sans traiter par l'acétate neutre de plomb, placer directement les coupes dans des sirops de saccharose ou de glucose, de concentration variable, et contenant divers colorants (bleu de naphthylène, rouge neutre, bleu de méthylène, etc.). Dans ce dernier cas, le gonflement a lieu après quelques minutes ou quelques heures, suivant le degré de concentration du sirop, et on peut en suivre toutes les phases. La stratification est bien moins nette lorsqu'on examine les coupes dans les sirops de sucre que dans l'eau ou dans une solution d'acide borique.

Dans les préparations traitées par l'acétate neutre de plomb et examinées après coloration dans l'eau ou dans l'acide borique, la stratification est très nette et les couches externes apparaissent très fortement colorées; les couches internes le sont peu; les plissements des parois radiales apparaissent avec une grande netteté (fig. 1, *p*). Bientôt, par suite du gonflement, ces plissements disparaissent et l'épaisseur des cellules épidermiques augmente notablement. Dans la même préparation, on peut rencontrer tous les intermédiaires entre les cellules ayant encore les cloisons plissées et celles dont les cloisons radiales sont devenues planes par l'extension.

La dissolution consécutive du mucilage s'observe mieux dans les sirops de saccharose ou de glucose; elle a lieu d'une manière inégale. Ce sont d'abord les couches externes placées sous la membrane épidermique qui disparaissent les premières en laissant un espace vide à l'endroit qu'elles occupaient; puis fréquemment une, rarement plusieurs couches de la région moyenne (*o*, fig. 2) se dissolvent entièrement et laissent encore un espace vide. C'est cet espace que M. Frank a observé et qu'il a désigné sous le nom de cavité cellulaire. L'action de l'eau continuant à se produire, la plus grande partie du mucilage s'extravase par un gonflement considérable, mais on peut trouver çà et là des cellules renfermant encore des strates mucilagineuses presque intactes (fig. 2, *s*), les unes fortement colorées occupant la région moyenne de la cellule, les autres très faiblement colorées occupant la région interne de la cellule.

Lorsque le mucilage peut s'échapper par les faces latérales de la coupe, la membrane épidermique reste intacte et les strates mucilagineuses les plus résistantes conservent à peu près leur forme; mais, si la membrane épidermique est rompue (fig. 4, s), les strates mucilagineuses qui persistent sont distendues et forment des anses ou des boucles qui s'allongent à travers la déchirure, de manière à acquérir une longueur de trois à quatre et même six fois égale à l'épaisseur des cellules. Après l'action très prolongée de l'eau dans le sirop de glucose, ces boucles sont tellement distendues que la partie convexe n'est plus visible, à cause de la dilution de la matière colorante, mais les branches de la boucle sont toujours très nettes (fig. 5, s). Il est important de remarquer que, pendant les phases successives du gonflement, les strates mucilagineuses qui se dissolvent, et celles qui persistent en se distendant plus ou moins, sont toutes fixées d'une manière invariable, par leurs extrémités amincies, sur les faces latérales de la cloison interne (fig. 2, 4, 5, a); jamais je n'ai vu les strates se détacher de la paroi avec laquelle elles contractent en ces points une grande adhérence. Ce fait, ainsi que la direction des bandes d'épaississement, démontre nettement la dépendance étroite du mucilage et des parois des cellules épidermiques.

Ainsi, par l'action ménagée de l'eau dans un liquide sirupeux, on voit que le mucilage se gonfle et se dissout inégalement : certaines strates disparaissent, tandis que les strates voisines restent intactes. Il est légitime d'admettre que le même phénomène se produit dans l'eau pure, mais avec une rapidité trop grande pour qu'on puisse l'observer. D'après cela, si l'on plonge des coupes dans l'eau, puis qu'on les traite immédiatement par l'alcool pour les examiner ensuite, comme l'a fait M. Frank, la dissolution de certaines strates aura lieu et on verra, à la place qu'elles occupaient, la cavité que cet auteur a confondue avec une cavité cellulaire.

*Analyse du mucilage au moyen des réactifs colorants.* — Avant de discuter les opinions émises sur la nature du mucilage, j'examinerai l'action des réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane.

*Action des colorants basiques.* — Les colorants basiques qui appartiennent aux groupes les plus divers des matières colorantes naturelles ou artificielles se fixent plus ou moins énergiquement sur le mucilage. J'ai spécialement employé le bleu de naphthylène, le rouge neutre, la safranine, le bleu de méthylène, etc.

Le bleu de naphthylène et le rouge neutre s'emploient en mélange avec le vert acide, soit en dissolution dans l'eau, soit en dissolution dans un sirop de saccharose ou de glucose.

Au début de l'action de ces réactifs, la membrane extérieure demeure incolore et les couches mucilagineuses sont colorées, mais d'une manière inégale : les couches externes sont fortement colorées et la coloration diminue graduellement de dehors en dedans, de sorte que les couches internes sont à peine colorées.

Par un séjour prolongé dans les réactifs, la teinte des tissus s'accroît et les parois externes radiales se colorent à leur tour. C'est sur des coupes traitées par des colorants basiques que j'ai décrit plus haut l'aspect et les phases diverses du gonflement et de la dissolution consécutive du mucilage.

La fixation des colorants basiques sur le mucilage, à l'exception des réactifs qui teignent le protoplasma, nous montre que cette substance appartient au groupe des composés pectiques.

*Action des colorants acides.* — J'ai montré que les colorants acides du groupe azotique, qui contiennent deux fois le groupement  $Az = Az$ , peuvent servir à caractériser la cellulose et fournissent des indications positives quand les réactifs iodés font défaut.

Les couleurs de la série benzidique conviennent spécialement dans l'étude du mucilage, pour déceler les traces de cellulose qui ont échappé à l'attention de quelques anatomistes. J'emploie spécialement le Congo brillant 4 R, le Congo Corinthe, la benzoazurine, etc., et j'opère de la manière suivante.

Les coupes minces de téguments sont d'abord traitées par l'acétate tribasique de plomb, puis soumises à l'action de la potasse ou de la soude caustiques avant de subir l'imprégnation du colorant acide en solution aqueuse (fig. 7). La membrane externe *e*, non gélifiable, est fortement colorée à l'extérieur, tandis que la face interne demeure incolore, les couches gélifiables externes *m* sous la partie granuleuse sont faiblement colorées et la coloration augmente graduellement d'intensité jusqu'à la région moyenne ; seules les couches *m'* occupant la région interne ne se colorent pas ou prennent une légère teinte rose. Au bout de quelques heures, le mucilage des cellules ainsi traitées se gonfle sans se dissoudre et détermine souvent la rupture de la membrane extérieure, comme on le voit pour trois des cellules figurées ; les strates mucilagineuses se dilatent et s'extravasent à travers la déchirure en restant toujours attachées à la base des parois radiales *a*. La stratification des couches internes apparaît alors avec une grande netteté, tandis que celle des couches externes et moyennes devient moins nette.

Si l'on remarque que la callose fait défaut dans l'assise mucilagineuse, comme l'indique l'absence de coloration avec les bleus solubles, on

pourra conclure à la présence de la cellulose dans les strates moyennes du mucilage de la graine de Lin.

Il est vrai que les réactifs iodés (acide phosphorique iodé, chlorure de calcium iodé, etc.) ne produisent pas, dans les essais que j'ai faits, la coloration bleue caractéristique; mais, comme ces réactifs colorent le mucilage en jaune, il est bien difficile de distinguer dans la teinte jaune générale la faible teinte bleue due à la cellulose.

*Action de la lumière polarisée.* — D'ailleurs, l'action de la lumière polarisée vient confirmer la présence de la cellulose dans les strates mucilagineuses. M. Frémy avait déjà constaté, et j'ai vérifié le fait à plusieurs reprises, que les composés pectiques et les gommés sont isotropes et par suite demeurent obscurs dans le champ du microscope, quand les nicols analyseur et polariseur sont croisés; la cellulose, au contraire, comme on le sait, depuis les observations de Dippel et de Muller, est anisotrope et devient en partie lumineuse dans les mêmes conditions, c'est-à-dire quand les plans de polarisation sont perpendiculaires. Si alors on intercale entre le polariseur et l'analyseur une coupe mince du tégument sec plongée dans la glycérine ou le chlorure de calcium saturé, on voit distinctement les régions moyennes des cellules à mucilage s'illuminer faiblement quand on croise les nicols.

On peut donc conclure de ces observations que le mucilage de la graine de Lin est essentiellement constitué par une substance voisine de l'arabine, appartenant au groupe des composés pectiques gélifiables, et mélangée à une faible proportion de cellulose. Ce mucilage n'est pas homogène : la capacité d'absorption pour l'eau, le gonflement et la rapidité de la dissolution sont très grands dans les strates externes et diminuent pour les strates internes; la fixation des colorants basiques a lieu aussi plus facilement dans les couches externes que dans les couches internes. Enfin, c'est dans la région moyenne de l'épiderme des graines *mûres* que le mucilage est mélangé à une faible proportion de cellulose.

Kützing avait observé le bleuissement du mucilage, sous l'influence de l'iode et de l'acide sulfurique et le considérait comme un mélange de cellulose et de bassorine. Par contre, Cramer l'a rapporté au groupe des celluloses, quoiqu'il n'ait pas réussi à obtenir la coloration signalée par Kützing. M. Frank (1) le range dans le groupe des gommés végétales et n'admet pas la présence de la cellulose, car le mucilage est inerte vis-à-vis des réactifs iodés et insoluble dans la solution ammoniacale

(1) Frank, *Zur Kenntniss der Pflanzenschleime*, 1865. *J. f. Prak. Chem. (Erdmann)*, Bd 95, p. 479.

d'oxyde de cuivre. M. W. Kirchner (1), contrairement à l'opinion de Cramer, a trouvé que le mucilage se colorait en brun ou violet et en certains endroits révélait la présence de la cellulose par une coloration bleue. De plus, en chauffant une certaine quantité de ce mucilage pendant quatre heures avec un excès d'acide sulfurique étendu (à 1 1/4 pour 100), il a toujours obtenu un résidu insoluble représentant 4 pour 100 environ du poids primitif et contenant de la cellulose. Enfin M. Tchirsch fait rentrer le mucilage de la graine de Lin dans le groupe des vrais mucilages. En comparant ces diverses affirmations contradictoires à mes observations, je me trouve amené à confirmer l'idée de Kützing, vérifiée par M. Kirchner, sur la nature complexe du mucilage, que l'on doit considérer comme un mélange de cellulose en faible quantité et de composés pectiques solubles formant l'arabine.

Je n'insisterai pas sur les réactions obtenues en chauffant le mucilage avec un mélange d'orcine et d'acide chlorhydrique ou de phloroglucine et d'acide chlorhydrique. Ces réactions ne sont nullement caractéristiques des mucilages et des gommes, car elles se produisent avec toutes les substances capables de fournir du furfurol qui appartiennent au groupe des *pentaglycoses* ou à leur dérivés (xylose, arabinose, etc.).

DÉVELOPPEMENT. — L'examen du développement confirme, malgré les affirmations erronées de M. Brandza, les rapports que j'ai exposés entre les membranes non gélifiables et les strates mucilagineuses.

Les premières phases de l'apposition de ces dernières contre la paroi externe des cellules épidermiques ont été bien décrites par M. Frank; je ne reviendrai pas sur ce point. Je présenterai seulement quelques observations sur la structure de l'épiderme dans les graines presque mûres.

La formation par apposition des couches gélifiables dans les cellules épidermiques a lieu très rapidement et au moment où la graine va atteindre sa maturité. Il n'existe, dans les dimensions ou dans la coloration des téguments, aucun indice permettant de trouver à coup sûr les stades divers de sa formation; c'est par tâtonnements et en coupant un grand nombre de graines que l'on parvient à trouver des états assez avancés.

J'ai représenté (fig. 8) le tégument d'une graine presque mûre, dont les cellules épidermiques ne sont pas encore rétractées, par suite de la dessiccation du mucilage et dans laquelle les assises sous-jacentes à l'épiderme n'ont pas encore été écrasées. Les coupes ont été traitées par

(1) W. Kirchner, *Untersuchungen über den Pflanzenschleim. Inaugural Dissertation.* Göttingen, 1874, p. 22.

l'acétate tribasique de plomb, puis soumises à l'action de la potasse caustique avant d'être colorées par le Congo Corinthe.

On aperçoit la membrane externe des cellules faiblement cutinisée et en partie déchirée *e*; au-dessous d'elle, il existe trois ou quatre couches incolores à bandes claires séparées par des bandes sombres *m*, puis en dedans une région moyenne assez compacte à couches de stratifications nombreuses régulières *m'* et enfin une région interne à strates en forme de capuchon ou d'arc assez fortement colorées en rose *m''*, tandis que la région moyenne l'est un peu moins.

Les dernières de ces couches internes *laissent toujours un espace entre elles et la paroi la plus interne n, non encore subérifiée, de la membrane épidermique*. Les diverses couches sont, sans exception, attachées en un point *a* de la paroi radiale qui sera la limite entre la région subérifiée et la région restée cellulosique. Le contenu cellulaire ayant disparu, on voit qu'il n'est pas possible d'admettre, comme M. Frank l'a fait, le dépôt de couches mucilagineuses à la face interne de la membrane et que toutes les couches sont formées par apposition à la face interne de la membrane externe et de la paroi radiale.

#### Diverses espèces de Lins.

*Linum grandiflorum* var. *roseum*. — Le tégument de cette espèce est très semblable à celui du Lin commun, il s'en distingue parce qu'il se gélifie très rapidement, même après l'action de l'acétate neutre de plomb. Quand on veut l'étudier, on traite les coupes du tégument par l'acétate tribasique de plomb et par la potasse caustique, on les colore ensuite avec le Congo Corinthe (fig. 9). Les membranes gélifiables sont faiblement colorées, mais présentent avec une grande netteté la stratification décrite à propos du Lin commun; les bandes de stratification convergent vers les points *a* situés vers la base des parois radiales. La région externe du mucilage *m* est homogène et la région moyenne plus fortement colorée présente quelques stries en éventail qui s'évanouissent rapidement vers l'extérieur. La région interne *m'* est, contrairement à ce qui existe dans le Lin commun, toujours granuleuse. Après le traitement qui vient d'être indiqué, le mucilage continue à absorber l'eau, se gonfle peu à peu, la membrane externe non gélifiable *e* est bientôt rompue et le mucilage s'extravase au dehors en formant un certain nombre de masses arrondies qui ne se mélangent pas. Les couches internes se gonflent à leur tour et prennent une structure en éventail très caractéristique.

*Linum perenne, Linum campanulatum*. — Deux autres espèces que

j'ai examinées différent du Lin commun et du Lin à grandes fleurs par la faible quantité de mucilage qu'elles produisent. Les graines n'ont pas, en effet, cet aspect vernissé et luisant qui caractérise le Lin commun et surtout le Lin à grandes fleurs. A cette différence près, les cellules épidermiques ont la même disposition et le mucilage apparaît à l'état de couches d'apposition appliquées à la face interne de la membrane extérieure et fixées toutes sur les parois radiales, à l'endroit où la partie cellulosique de celles-ci confine à la région subérifiée. C'est ce que l'on peut voir par les figures 11 et 13, dans lesquelles le mucilage *m* est formé de strates fixées en *a*. Dans le *Linum perenne* la formation du mucilage est un peu plus importante et, lorsque le tégument est plongé dans l'eau, le mucilage se gonfle en déterminant la rupture de la membrane externe et forme des masses proéminentes en nombre égal à celui des cellules épidermiques (fig. 13, *m*). Dans le *Linum campanulatum* le gonflement du mucilage est bien plus faible et ne détermine pas aussi facilement la rupture de la membrane externe; les strates mucilagineuses sont ondulées et se moulent sur les saillies arrondies de la membrane interne (fig. 11, *m*). Cette dernière est subérifiée comme à l'ordinaire, mais elle s'est fortement épaissie et présente des renflements réguliers à sa face interne; la subérification a envahi toute la région épaissie. La subérification constante de la membrane interne, même lorsqu'elle s'épaissit, exclut l'idée d'une relation entre cette membrane et les couches mucilagineuses qui dépendent exclusivement de la membrane externe.

*Conclusions.* — En résumé, l'assise épidermique de la graine des Linées étudiées épaissit et transforme ses membranes pendant la maturation.

La membrane interne et parfois une faible étendue des parois radiales se subérifie constamment : tantôt elle s'épaissit à peine (*Linum usitatissimum*, *Linum grandiflorum*), parfois elle s'épaissit davantage (*Linum perenne*) et acquiert, dans certains cas, une épaisseur considérable (*Linum campanulatum*).

La membrane externe se compose toujours d'une partie externe faiblement cutinisée non gélifiable et de couches d'apposition secondaires qui forment le mucilage; elles acquièrent une si grande importance qu'elles font disparaître, au moment de la maturation de la graine, la cavité interne. Ces couches d'apposition sont toutes fixées en un point constant des faces radiales, déterminé par la séparation de la zone subérifiée et de la zone restée cellulosique.

Le mucilage de la graine de Lin est constitué essentiellement par une substance voisine de l'arabine, mais il est toujours accompagné par de la

cellulose très abondante dans les strates moyennes ou dans les strates internes. — Ces résultats, qui montrent combien les affirmations de M. Brandza sont éloignées de la vérité, me dispenseront de faire la critique détaillée du travail de cet auteur.

### Explication de la planche I de ce volume.

Les figures sont toutes représentées avec un grossissement de 250 diamètres environ.

#### Figures 1 à 8. — *Linum usitatissimum*.

- FIG. 1. — Assise épidermique de *Linum usitatissimum*, traitée par l'acétate tribasique de plomb, colorée par le rouge neutre et le vert acide, examinée aussitôt après l'action des réactifs et avant le gonflement : *e*, membrane externe avec sa mince couche cutinisée *c*; *p*, parois radiales encore plissées; *m*, assises mucilagineuses convergeant toutes au point *a*; *n*, paroi interne lignifiée.
- FIG. 2. — Assise épidermique observée après le gonflement dans un sirop de glucose, additionné de rouge neutre et de vert acide, montrant les parois radiales rectilignes par suite de l'extension qui a fait disparaître les plis. L'une des cellules est encore remplie de mucilage, l'autre présente des cavités *o*, dues à la dissolution de quelques strates mucilagineuses. Dans la troisième, la dissolution du mucilage est presque complète et il ne reste plus que quelques strates *s*; les autres lettres comme en 1.
- FIG. 3. — Assise épidermique examinée après la dissolution du mucilage dans une solution concentrée d'acide phosphorique iodé : *e*, membrane externe non gélifiable, fortement gonflée, montrant les stratifications dont elle est composée; *c*, sa mince cuticule; *p*, parois radiales contournées; *b*, base subérifiée des parois radiales; *a*, point d'insertion des couches mucilagineuses.
- FIG. 4. — Assise épidermique examinée dans une solution de glucose mélangée de bleu de méthylène ou de rouge neutre. A droite, deux cellules intactes, montrant les assises moyennes *m* du mucilage fortement colorées; à gauche, deux cellules rompues, montrant les autres assises mucilagineuses *s* encore rattachées aux parois radiales en *a*; *p*, parois radiales.
- FIG. 5. — Assise épidermique examinée dans un sirop de glucose mélangé de bleu de naphthylène ou de bleu de méthylène, montrant toutes les cellules rompues par la déchirure de la membrane externe : *s*, base des strates mucilagineuses moyennes rattachées toutes sur les parois radiales au point *a*; *b*, base subérifiée des parois radiales.
- FIG. 6. — Fragment de l'assise épidermique dépouillée du mucilage, traitée par les colorants de la cellulose ou des composés pectiques; il montre

la structure granuleuse des parois radiales  $p$  :  $e$ , membrane externe;  $b$ , région subérifiée des parois radiales.

- FIG. 7. — Assise épidermique traitée par l'acétate tribasique de plomb, et colorée par le Congo Corinthe après l'action de la soude :  $e$ , membrane externe fortement colorée en dehors et incolore en dedans;  $m$ , couches mucilagineuses externes et moyennes fortement colorées;  $m'$ , couches mucilagineuses internes faiblement colorées;  $p$ , parois radiales;  $a$ , point d'attache des couches mucilagineuses.
- FIG. 8. — Assise épidermique d'une graine de Lin presque mûre, traitée par l'acétate tribasique de plomb, colorée par le Congo Corinthe après l'action de la soude :  $a$ , point d'attache des strates mucilagineuses;  $m$ , strates externes déjà gonflées et faiblement colorées;  $m'$ , strates moyennes à peine gonflées, bien colorées;  $m''$ , strates internes gonflées, fortement colorées et séparées par des intervalles clairs. Cette figure montre nettement que les strates internes sont indépendantes de la paroi interne  $n$  destinée à être subérifiée au moment de la maturation.
- FIG. 9. — Assise épidermique de *Linum grandiflorum* traitée par l'acétate tribasique de plomb, colorée par le Congo Corinthe après l'action de la soude. La membrane externe  $e$  non gélifiable est rompue, elle se compose d'une couche externe fortement colorée et d'une couche interne granuleuse faiblement colorée :  $m$ , couches mucilagineuses externes et moyennes à stries disposées en éventail et fortement colorées à la région interne;  $m'$ , couches mucilagineuses internes granuleuses et faiblement colorées;  $n$ , membrane interne subérifiée;  $a$ , point d'attache des strates mucilagineuses.
- FIG. 10. — Assise épidermique de *Linum campanulatum* examinée dans la glycérine ou le chlorure de calcium en solution saturée :  $n$ , membrane interne subérifiée fortement épaissie et verruqueuse à sa face interne.
- FIG. 11. — Assise épidermique de *Linum campanulatum* traitée par l'acétate tribasique de plomb et colorée, après l'action de la potasse caustique, par le Congo Corinthe. Les strates mucilagineuses  $m$  sont gonflées et remplissent la cavité cellulaire. Elles sont ondulées parce qu'elles suivent les accidents de la membrane interne  $n$  et s'attachent toutes au même point  $a$  des faces radiales :  $e$ , membrane externe.
- FIG. 12. — Assise épidermique de *Linum perenne* var. *mixtum*, examinée dans la glycérine ou le chlorure de calcium en solution saturée :  $n$ , membrane interne subérifiée.
- FIG. 13. — Assise épidermique de *Linum perenne* var. *mixtum* traitée par l'acétate tribasique de plomb et colorée par le Congo Corinthe, après l'action de la potasse caustique. Les couches mucilagineuses  $m$ , fortement gonflées, ont déterminé la rupture de la membrane extérieure, elles viennent toutes converger sur un même point  $a$  de la paroi radiale :  $n$ , assise subérifiée.